昆 虫 学 报 Acta Entomologica Sinica, July 2007, 50(7):727 – 736　ISSN 0454-6296

转基因抗虫棉花和玉米与节肢动物相关的生态安全性研究进展

韩兰芝[1],白树雄[1],赵建周[1,2,*],王振营[1],吴孔明[1]

(1. 中国农业科学院植物保护研究所,植物病虫害生物学国家重点实验室,北京　100094;
2. Department of Entomology, Cornell University-NYSAES, Geneva, NY 14456, USA)

摘要:转基因抗虫棉花和玉米自 1996 年商业化种植以来,已取得显著的经济、生态和社会效益。与其相关的生态安全性,特别是其对非靶标生物的影响及靶标害虫的抗性监测和治理已成为人们普遍关注的话题。本文在大量室内和田间评价工作的基础上,系统综述了国内外研究在该领域内取得的进展。结果表明:由于 Bt 棉田和玉米田杀虫剂用量的减少,某些对 Bt 杀虫蛋白不敏感的非靶标植食害虫种群有上升的趋势;现阶段生产上推广种植的 Bt 棉花和玉米花粉对家蚕、柞蚕和蜜蜂等经济昆虫以及帝王斑蝶是安全的。杀虫剂用量的减少,降低了对天敌的杀伤力,Bt 田中捕食性天敌的种类和数量均显著高于常规施药田;但 Bt 田内靶标害虫数量的减少和质量的降低,在一定程度上影响了寄生性天敌的种类和数量。Bt 棉花和玉米的大面积种植对农田生态系统节肢动物群落结构无明显不利影响。靶标害虫田间抗性监测结果表明,无论在以大农场单一种植经营为主的发达国家如美国或澳大利亚,还是在以小农经营为主的多种寄主作物小规模交叉混合种植模式的发展中国家如中国或印度,田间并未出现 10 年前人们所关注和预测的靶标害虫种群抗性上升问题。究其原因,可能与发达国家严格执行了预防性的抗性治理对策及发展中国家独特的作物种植模式有关。尽管目前在田间尚未发现害虫对 Bt 作物产生抗性,但应用更多年份之后,害虫对 Bt 作物的抗性就很可能不是'是否'发生问题,而是'何时'发生的问题。因此,今后的研究重点应放在 Bt 棉花和玉米长期、大面积种植后,其对非靶标生物及靶标害虫抗性发展影响的长期生态效应上。

关键词:Bt 棉花和玉米;生态安全;非靶标生物;抗性监测;抗性治理
中图分类号:Q968　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:0454-6296(2007)07-0727-10

Progress in ecological biosafety of insect-resistant transgenic cotton and corn in relation to arthropods

HAN Lan-Zhi[1], BAI Shu-Xiong[1], ZHAO Jian-Zhou[1,2,*], WANG Zhen-Ying[1], WU Kong-Ming[1] (1. State Key Laboratory of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. Department of Entomology, Cornell University-NYSAES, Geneva, NY 14456, USA)

Abstract: Since Bt cotton and corn were commercially planted in 1996, remarkable economic, ecological and social benefits have been obtained. However, ecological biosafety pertinent to their introduction has become a public concern, especially the potential impact of Bt crops on non-target organisms and evolution of resistance in target insect pests. The progress of laboratory and field assessment of Bt corn and cotton on non-target arthropods and resistance management of target insects were reviewed in this article. Research has shown that field populations of some non-target herbivorous insects in Bt crops may increase due to the removal of wide-spectrum insecticides. The pollen or nectar of Bt corn and cotton as food sources of honey bees or the natural drift of pollen onto food plants of silkworms have no direct or indirect detrimental influence on these beneficial insects as well as the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. Bt cotton and corn may affect natural enemies indirectly by decreasing the population of lepidopteran insects that serve as hosts of parasitoids or predators.

基金项目:国家 973 项目(2001CB109004)
作者简介:韩兰芝,女,1976 年生,汉族,山东郓城县人,博士,研究方向为 Bt 作物的抗性治理, E-mail: lzhhan@sina.com
* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail: zhaojz@yahoo.com
收稿日期 Received: 2006-05-23; **接受日期** Accepted: 2007-06-15

Population densities of predators in Bt fields were significantly higher than those in non-Bt fields treated with insecticides for control of target pests. However, population size and species richness of parasitoids might decrease due to lower density or poor quality of their host insects. There were no significant negative effects of Bt cotton and corn on the abundance and diversity of foliar and soil arthropod communities. Resistance monitoring demonstrated that resistance of target insects to Bt cotton and corn has not occurred in fields after 10 years of commercial use, either in large-scale farming system as in the U.S. and Australia or in small-scale planting of Bt cotton in as China and India where several other non-Bt host crops of the target insects can serve as natural refuge. The absence of field resistance to date is presumed to be due to the implementation of refuge strategy in the developed countries and the unique cropping pattern in the developing countries. However, caution for resistance evolution continues to be warranted because resistance to Bt crops most likely remains a question of not "if" but "when". Therefore, future work should be emphasized on the impact of long-term and large-scale planting of Bt cotton and corn on non-target organisms and resistance evolution of target pests.

Key words: Bt cotton and corn; ecological biosafety; non-target organisms; resistance monitoring; resistance management

转基因抗虫作物近年来已在十多个国家推广和应用，2005 年全球种植面积达 2 600 万公顷，并取得了显著的经济、生态和社会效益（Shelton *et al*., 2002；James，2005）。在已进入商品化应用的转基因抗虫作物中，采用的基因主要是来自苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis*（简称 Bt）杀虫晶体蛋白基因。当 1996 年 Bt 玉米和棉花在美国开始商品化应用时，其种植面积分别为 16 万和 70 万公顷，分别占其当年作物总种植面积的 0.5%和 13%（US EPA，1998）；十年后，美国种植的 Bt 玉米和棉花分别达 1 000万和 300 万公顷以上，分别占其作物总种植面积的 34%和 52%（USDA，2005），其发展速度极快。

在转基因作物（包括 Bt 作物）大规模商业化种植和快速发展的十年中，尽管世界各国政府均按照严格的程序和标准对其进行了安全性评价和管理，但国际上对转基因作物安全性还存在疑虑和争议。由于 Bt 杀虫剂安全应用的历史已超过半个世纪，Bt 制剂又可作为有机农业或绿色食品生产中选用的杀虫剂，人们对 Bt 作物中 Bt 毒蛋白的食品安全性争议不大。对 Bt 作物环境风险和生态安全性关注的重点，主要包括基因飘移，对非靶标物种及生物多样性的影响，以及靶标害虫种群的抗性适应等，则期望通过多年、大面积的田间和室内实验加以明确（O'Callaghan *et al*.，2005；黄方能，2005）。在最早应用 Bt 棉花或玉米的美国和澳大利亚，近年来对此进行了大量连续多年的田间研究，其中基于 11 个田间实验的 13 篇系列研究论文，曾集中刊载于美国昆虫学会出版的《Environmental Entomology》期刊 2005 年第 5 期上（Naranjo *et al*., 2005；Naranjo，2005a，2005b；Prasifka *et al*.，2005；Whitehouse *et al*.，2005；Torres and Ruberson，2005；Head *et al*.，2005；Dively，2005；Daly and Buntin，2005；Pilcher *et al*.，2005；Lopez *et al*.，2005；Bhatti *et al*.，2005a，2005b；Bitzer *et al*.，2005）。中国是世界上第三个商业化种植转基因抗虫棉的国家，对 Bt 棉的环境安全性也做了大量研究工作，取得了重要进展。本文就近年来国内外对 Bt 棉花和玉米生态安全性评价的研究进展做如下综述，重点是对非靶标节肢动物的影响以及靶标害虫抗性的监测和治理。

1 Bt 棉花和玉米对非靶标节肢动物的影响

1.1 对非靶标植食害虫的影响

Bt 棉花的大面积商业化推广和应用，显著降低了棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、棉红铃虫 *Pectinophora gossypiella* 和烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 等靶标害虫的发生数量，区域性灾变风险显著降低。Bt 棉田杀虫剂用量的减少，一方面增加了天敌的种类和数量，加强了对部分害虫的自然控制作用，如瓢虫类、草蛉类和蜘蛛类天敌数量的增加，有效地控制了蕾铃期棉蚜 *Aphis gossypii* 的种群发展（Wu and Guo，2003）。但另一方面天敌控制作用较差的害虫如温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum*、烟蓟马 *Thrips tabaci*、棉叶螨 *Tetranychus cinnabarinus*（崔金杰和夏敬源，1998）和棉叶蝉 *Empoasca biguttula*（Wilson *et al*.，1992）等种群数量呈明显的上升趋势，必须施用杀虫剂才能控制其危害。近年来，我国华北 Bt 棉区绿盲蝽 *Lygus*

lucorum、三点盲蝽 *Adelphocoris fasciaticollis* 和苜蓿盲蝽 *A. lineolatus* 的发生日趋严重，逐渐上升为棉田的主要害虫。在普通棉田，防治棉铃虫用药的同时有效地兼治了盲蝽蟓种群的发展，使其成为棉田的次要害虫。在 Bt 棉田，由于防治棉铃虫农药用量的大幅度减少，盲蝽蟓则有可能取代棉铃虫上升为棉田的优势害虫，并在气候适宜年份造成重大经济损失（Wu *et al*.，2002b）。第 2 代转 Bt 基因棉（Bollgard Ⅱ 和 WideStrike）对棉田次要害虫甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 的控制效果显著高于第 1 代抗虫棉（Bollgard Ⅰ），因此第 2 代抗虫棉的大面积推广可在一定程度上防止棉田次要害虫发生地位的更替（Stewart *et al*.，2001；Greenplate *et al*.，2003；Adamczyk and Gore，2004）。

Bt 玉米对非靶标植食害虫的影响也有较多报道，但大多数研究认为 Bt 玉米中的 Bt 毒蛋白能通过食物链进入植食害虫体内，但 Bt 毒蛋白对非靶标植食害虫的生长发育和繁殖没有明显的抑制作用。例如，Head 等（2001）应用酶联免疫分析（ELISA）和生测对取食表达 Cry1Ab 蛋白的 Bt 玉米植株或含有不同浓度 Cry1Ab 蛋白的人工饲料后的非靶标害虫进行评估，发现 Cry1Ab 蛋白在被检测的昆虫体内含量均较低。玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 取食人工饲料后，体内 Cry1Ab 蛋白水平仅为饲料水平的 1/250 ~ 1/500，而取食 Bt 玉米植株后其体内没有检测到 Cry1Ab 蛋白。Raps 等（2001）采用 ELISA 方法对取食 Bt 玉米的禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 的成虫和蜜露进行分析，没有发现 Cry1Ab 蛋白存在，表明禾谷缢管蚜作为被捕食者不可能使其天敌受到伤害。Lumbierres 等（2004）研究发现，在玉米幼苗期，Bt 玉米上禾谷缢管蚜的密度甚至高于对照，此时蚜虫处于定殖期，其他生育期内两处理均无显著差异；且蚜虫的死亡率、发育速率、生殖力和内禀增长率在 Bt 和非 Bt 玉米中亦无显著差异，这可能与 Cry1Ab 毒蛋白在 Bt 玉米的韧皮部中没有表达或表达量较少有关。Harwood 等（2005）对取食表达 Cry1Ab 蛋白的 Bt 玉米的非靶标害虫，包括玉米跳甲 *Chaetocnema pulicaria*、日本丽金龟 *Popillia japonica* 和玉米切根叶甲 *Diabrotica undecimpunctata*，进行了检测，结果发现这些昆虫体内均存有相当数量的 Cry1Ab 蛋白，表明确实有较多的 Cry1Ab 蛋白通过食物链进入了更高的营养级，只是在不同的昆虫体内，其含量有所不同。

1.2 Bt 玉米花粉对帝王斑蝶的影响

Bt 玉米花粉对帝王斑蝶 *Danaus plexippus* 的影响，黄方能（2005）对此进行了详细的介绍，在这里仅做简要描述。帝王斑蝶是北美重要的蝶类昆虫，其唯一的食物是马利筋属的杂草即马利筋草 *Asclepias curassavica*，该杂草广泛分布在玉米田间及周围农田。

自 Losey 等（1999）在英国著名的《自然》杂志上报道转 *cry1Ab* 玉米（Bt-11）花粉能对帝王斑蝶造成伤害后，在美国乃至世界立即掀起了一场有关 Bt 玉米是否伤及帝王斑蝶的争论。值得注意的是，该研究在试验设计、方法和数据设计上均存在许多问题，为此受到同行的强烈谴责（Hodgson，1999）。比如，Losey 等撒在马利筋草叶片上的花粉量非常大，与田间条件不相吻合。其次，没有研究玉米花粉脱落高峰期与帝王斑蝶产卵、孵化及生长期的吻合程度。再者，Cry1Ab 毒素在 Bt-11 玉米中的含量非常低，每克花粉中仅含 0.9 ug 的 Cry1Ab 毒素，为当时正在推广种植的另一 Bt 玉米（Event 176）花粉中 Cry1Ab 含量的 1/8。虽然该研究在试验设计上存在一些漏洞，但其意义在于开创了 Bt 作物对非靶标物种影响研究的先河。为了就 Bt 玉米对帝王斑蝶的风险作出科学的研究和评价，美国农业部（USDA）和农业生物技术管理委员会（ABSTC）拨出专项基金就此研究进行资助。经过两年多的通力合作，研究成果以 5 个姊妹篇的形式一并发表在美国科学院院报上（Hellmich *et al*.，2001；Oberhauser *et al*.，2001；Plesants *et al*.，2001；Sears *et al*.，2001；Stanley-Horn *et al*.，2001）。结果表明，生长季节的玉米田是帝王斑蝶的主要产卵和幼虫取食场所，斑蝶的发生时间与玉米扬花期基本吻合，且美国中北部玉米带的吻合程度要高于南部地区（Oberhauser *et al*.，2001）。玉米田间的马利筋草上的玉米花粉浓度最高，在玉米田外，花粉的沉积量与离玉米地的距离成反比，降雨能显著降低玉米花粉的沉积量（Plesants *et al*.，2001）。Hellmich 等（2001）认为花粉含量高的 Event 176 Bt 玉米花粉确实能对帝王斑蝶产生一定影响，但其影响程度随幼虫龄期的增高而降低。但花粉含量低的其他 Bt 玉米如 Bt-11、Mon 810、DBT 418、CBH351 和 TC1507 在田间正常花粉沉积密度下，不会对帝王斑蝶造成明显影响。Stanley-Horn 等（2001）的田间观察结果与 Hellmich 等（2001）的室内试验结果基本相符。因此认为现阶段推广的两个 Bt 玉米品种（Bt-11 和 Mon 810）花粉在田间自然条件下不会对帝王斑蝶产生不良影响（Sears *et al*.，2001）。也有研究发现 Event 176 Bt 玉米花粉可显著抑制北美黑

尾凤蝶 *Papilio polyxenes* 幼虫的生长发育，但对帝王斑蝶的影响较小（Zangerl *et al*.，2001）。室内观察发现帝王斑蝶对沉积有 Bt 玉米花粉和非 Bt 玉米花粉的马利筋草叶片没有明显的选择性（Tschenn *et al*.，2001）。

上述研究也为政府部门对 Bt 植物的生物安全管理提供借鉴。如美国环保局（US EPA）对新 Bt 玉米申请注册时新增加了一项要求，即注册公司必须提供有关对帝王斑蝶影响的研究数据（US EPA，2001）。对花粉含量高且可能对帝王斑蝶造成伤害的 Event 176 Bt 玉米种子宣布停止登记和生产（US EPA，2001）。

1.3 对经济昆虫的影响

Bt 棉和玉米花粉对蜜蜂、家蚕等非靶标经济昆虫的影响也是其生物安全评价研究的内容之一，大多数研究认为，Bt 棉和玉米花粉对这两类经济昆虫无任何明显的毒害作用。Sims（1995）用 Bt 棉花粉直接饲喂意大利蜜蜂 *Apism ellifera*，没有发现明显的不利影响。根据 US EPA（2000）公布的数据，当以相当于大田抗虫棉花粉和花蜜中 Cry1Ac 表达水平的 1 700倍和 10 000 倍饲喂蜜蜂的幼虫和成虫时，没有出现中毒症状。德国科学家用粗纱网将大田种植的转 *crylAb* 基因玉米分隔成一个空间，当蜜蜂在其空间内放置 7 天后，含 CrylAb 蛋白的玉米花粉对蜜蜂的存活、搜索行为及幼虫的发育没有影响，其后 30 天的观察也表明对幼虫的发育没有影响（US EPA，2000）。Bt 棉花和玉米花粉在风等传播媒介的作用下可漂移到桑树或柞树上，用 Bt 棉花和玉米花粉处理桑叶和柞树叶分别饲喂不同龄期的家蚕 *Bombyx nori* 和柞蚕 *Antheraea pernyi* 幼虫后，家蚕或柞蚕各龄期的死亡率、蛹重、茧重、茧层厚、化蛹率、羽化率和产卵量与对照没有显著差异，且也无明显的剂量效应，说明转抗虫基因棉花和玉米花粉对家蚕和柞蚕的生长发育不会产生不良影响（李文东等，2002，2003）。

1.4 对天敌昆虫及其种群动态的影响

大规模种植 Bt 作物是否影响农业生态系统中天敌的种类和数量受到各国科学家的关注。大多数研究者认为 Bt 棉花和玉米中的 Bt 毒蛋白对天敌没有直接的杀伤作用，其大规模种植可能对某些天敌产生不良影响，主要是由于猎物或寄主的营养不良所致。

对玉米田中重要的捕食性天敌绿草蛉 *Chrysoperla carnea* 的室内研究发现，绿草蛉取食以 Bt 玉米为食的海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 幼虫后，其死亡率明显高于对照，但取食生活在 Bt 玉米上的禾谷缢管蚜后，却未表现出明显的差异（Hilbeck *et al*.，1998a，1998b，1999）。进一步研究发现，绿草蛉分别取食以 Bt 玉米为食的禾谷缢管蚜、二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 和海灰翅夜蛾后，取食海灰翅夜蛾处理的死亡率明显高于对照，且发育迟缓，而取食二斑叶螨和禾谷缢管蚜的绿草蛉的生长发育并未受到任何影响。ELISA 进一步分析表明，Cry1Ab 蛋白在二斑叶螨体内含量最高，海灰翅夜蛾次之，禾谷缢管蚜体内极少（Dutton *et al*.，2002）。内禀增长率研究表明，禾谷缢管蚜和二斑叶螨在取食转基因或非转基因植物时并没有差异。分析该现象产生的原因可能与猎物营养因素有关。因 Bt 蛋白的主要作用对象为鳞翅目害虫，海灰翅夜蛾一旦取食含 Bt 蛋白的食物后可能会很快停止取食，体内发生病变，从而导致以取食过 Bt 玉米的海灰翅夜蛾为猎物的绿草蛉就会因营养不良而增加其死亡率，要想证实这一结果还需进一步研究（黄方能，2005）。

在 Bt 棉田内，七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*、龟纹瓢虫 *Propylaea japonica*、草间小黑蛛 *Erigonidium graminicolum* 和大眼蝉长蝽 *Geocoris punctipes* 的捕食量显著高于常规田，但其种群数量与常规棉田无显著差异（崔金杰和夏敬源，1998，1999）。同样用取食 *cry1Ac* + *CpTI* 双价基因棉的棉蚜饲喂异色瓢虫 *Leis axyridis* 后，也未出现不良影响（Velders *et al*.，2002）。在 *cry1Ac* 抗虫棉未登记之前，就已明确绿草蛉、锚斑长足瓢虫 *Hippodamia convergens* 等天敌直接取食 Bt 棉花粉、蜜露或取食以 Bt 棉为食的植食昆虫后，不会产生不良影响（US EPA，2000）。龟纹瓢虫取食 Bt 棉上的棉蚜后，发育速率加快，成熟期提前，交配频率增高，但产卵前期和生殖能力并未受到任何影响，且发现 Bt 蛋白通过棉蚜进一步传递到龟纹瓢虫体内，这说明 Bt 蛋白虽能改变捕食性天敌的行为和生物学习性，但对天敌本身并无明显的毒害作用（Zhang *et al*.，2006）。然而 Ponsard 等（2002）对短小暗色花蝽 *Orius tristicolor* 和大眼蝉长蝽的室内饲养观察结果却与田间调查结果有些出入，认为短小暗色花蝽和大眼蝉长蝽成虫取食以 Bt 棉为食的甜菜夜蛾后，能显著降低两种天敌的寿命。该研究的试验设计与 Hilbeck（1998）相似，且试验结论也相同。如前所述，这种观察结果完全可能是因猎物取食了含 Bt 蛋白的食物后生长发育不良而不能像对照猎物一样能提供给捕食者充足

的营养所致（黄方能，2005）。另有研究表明，转基因棉花和玉米的广泛种植，能显著减少化学杀虫剂的使用，有利于保护自然天敌，因此不会对捕食性天敌的群落结构产生不利影响（Naranjo，2005a，2005b；Torres and Ruberson，2005；Daly and Buntin，2005）。

在 Bt 棉田内，棉铃虫等靶标害虫因取食 Bt 棉常常不能完成生长发育而中毒死亡，进而影响到其寄生性天敌中侧沟绿茧蜂 *Microplitis* spp. 和齿唇姬蜂 *Campoletis chlorideae* 的生长、发育和繁殖。具体表现为寄生蜂的寄生率和茧的羽化率明显下降，茧重和蜂重明显减轻（崔金杰和夏敬源，1999）。对以 Bt 棉花和玉米上的鳞翅目害虫为寄主的 6 种寄生蜂的研究表明，寄生蜂对取食了 Bt 毒素且发育迟缓的寄主表现的非常敏感，这进一步说明抑制寄生蜂生长发育的主要原因是寄主营养质量差，而非对 Bt 杀虫蛋白产生中毒反应（Romeis *et al*.，2006）。对专一性寄生天敌长距茧蜂 *Microplitis cingulum* 来说，寄主欧洲玉米螟的质量和数量严重影响其种群动态的变化（Pilcher *et al*.，2005）。在我国 Bt 棉区的研究也证明了上述结论，即 Bt 棉田棉铃虫寄生性天敌的种群数量明显少于常规田，即使在每代发生期采用人工接虫也得到同样结果（崔金杰和夏敬源，1998）。

1.5 对农田生态系统中节肢动物群落多样性的影响

Bt 棉花和玉米的商业化生产已有 10 年，其对农田生态系统中节肢动物群落多样性影响的研究已相继开展。在转 *cry1Ac* 基因棉田连续 3 年的田间调查结果表明，Bt 棉区总节肢动物数量及总害虫数量均显著低于非 Bt 棉区；然而，天敌总量却没有显著差异，并认为总节肢动物种群数量的降低主要是由于害虫数量的减少所致（Men *et al*.，2003，2004）。多数研究还表明，Bt 棉花和玉米不会影响天敌的群落结构和功能（Naranjo，2005a，2005b；Torres and Ruberson，2005），并且由于杀虫剂用量的减少，田间节肢动物群落的多样性和物种的丰富度均明显高于常规施药田，有利于棉田和玉米田生态系统的稳定和害虫的综合治理（Bhatti *et al*.，2005a，2005b；Dively，2005；Head *et al*.，2005；Whitehouse *et al*.，2005；Lopez *et al*.，2005）。

Prasifka 等（2005）认为田间节肢动物在试验小区之间及试验小区与周围环境之间的频繁移动可能降低不同处理间物种丰富度的差异。此外，叶表和地表节肢动物的丰富度也取决于试验小区的大小和小区之间是否存在隔离。在进行田间试验时，建议每个试验小区的面积应大于 9 m^2。

Bt 棉花和玉米产生的 Bt 毒素可通过根系分泌物、植株残体及花粉飘落等多种途径进入土壤中并可能长期保持活性。但目前研究均认为 Bt 植株及残留组织对土壤中的非靶标物种没有任何不良影响（Saxena and Stotzky，2000；Stotzky，2000）。如 Bt 棉田和玉米田中的杀虫蛋白对土壤中的弹尾目昆虫 *Folsomia candid* 和土壤螨 *Oppia nitens* 均没有明显影响（Yu *et al*.，1997；Al-Deeb *et al*.，2003；Bitzer *et al*.，2005）。

Lövei 和 Arpaia（2005）以对 18 种捕食性天敌和 14 种寄生性天敌的室内研究为例，说明了仅采用室内结果评价转基因植物对天敌的影响具有非常大的局限性，很难代表田间的实际情况（Dutton *et al*.，2003；Lövel and Arpaia，2005；Romeis *et al*.，2006）。主要表现在：就评价指标来看，主要考虑生存率、生长发育进度与繁殖力等，很少从种群、群落和生态系统有关参数方面来考虑（Dutton *et al*.，2003）；从试验时间来看，有的已经转基因作物处理过的猎物或寄主喂饲捕食性天敌或寄生蜂的时间仅 1 ~ 2 天，很少考虑持续 1 代或多代连续考查评价的研究，难以正确评估其慢性生态毒理效应；就评价的对象来看，未涉及对重要捕食性天敌——蜘蛛的评价（Lövel and Arpaia，2005）；而且多是从 Bt 作物-植食者-天敌这一单一食物链来研究的，缺乏生态系中食物网的综合评价研究（Dutton *et al*.，2003；Lövel and Arpaia，2005；Romeis *et al*.，2006）。建议应选取有代表性的物种，从种群、群落、生态系统和食物网等方面长期、全面和系统地对非靶标生物进行评价（Lövel and Arpaia，2005）。

2 靶标害虫抗性的监测与治理

2.1 靶标害虫抗性的监测

昆虫种群对杀虫药剂或抗虫植物的抗性发展是一种自然的进化适应过程，如果无法对其有效控制则有可能对害虫防治和农业生产带来严重后果，国内外均不乏这方面的实例，例如棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、小菜蛾 *Plutella xylostella* 和马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 等。在田间或温室条件下，已有小菜蛾和粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 两种农业害虫对 Bt 杀虫剂产生了抗性，在室内汰选条件下还有多种其他害虫可对 Bt 杀虫蛋白或制剂产生抗性（Ferre and van Rie，2002）。

由于 Bt 作物中 Bt 杀虫蛋白的高剂量和连续性表达，它对害虫种群的抗性选择压要高于一般杀虫剂，因此抗性风险也较高，预防性的抗性监测与治理对策对于 Bt 作物的可持续应用具有重要意义。

一套高效的抗性监测体系应及时提供如下信息：(1)早期、低水平的抗性初始基因频率；(2)抗性基因频率的早期转移动态(Huang，2006)。目前靶标害虫对 Bt 作物的抗性监测方法，主要包括传统生物测定确定抗性指数，诊断剂量检测抗性个体频率，与抗性种群单对杂交检测抗性等位基因频率，F_2 代检测超低频率抗性基因，用 Bt 作物在田间直接检测及抗性基因分子检测等(赵建周和芮昌辉，2001；李国平等，2003；Huang，2006)。上述监测方法各有优点及其应用的局限性，在使用时应针对实际需要来确定适宜的监测方法。

自 1997 年，美国就采用田间调查和诊断剂量检测法对 Arizona 州的棉红铃虫抗性进行监测，其对 Cry1Ac 杀虫蛋白的抗性基因频率为 0.16(Tabashnik *et al*.，2000)；1997 – 1999 年其抗性基因频率并没有增加，Bt 棉对棉红铃虫一直保持较高的抗性效果(Tabashnik *et al*.，2000)。Gould 等(1997)采用单对杂交法，从美国 4 个州(Mississippi，Louisiana，Texas 和 North Carolina)采集了 2 000 只雄性烟芽夜蛾与实验室内的 Bt 抗性品系雌蛾杂交，筛选 F_1 和 F_2 代存活个体，直接估计田间种群抗性基因频率为 0.0015。Burd 等(2003)采用同样的方法从 583 个烟芽夜蛾单雌系中检测到 1 个对 Cry1Ac 毒蛋白产生抗性的个体，估计其抗性基因频率为 0.00043；从 646 个单雌系中检测到 1 个 Cry2Aa 毒蛋白抗性个体，估计抗性基因频率为 0.00039。从 1998 – 1999 年采用生物测定法对美国四州(Alabama，Florida，South Carolina 和 Georgia)的美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 种群对 Cry1Ac 毒蛋白的耐受性进行连续 3 年的监测，结果表明，其耐受性呈逐渐增高的趋势(Sumerford *et al*.，1999)。采用单雌系 F_1/F_2 代诊断剂量检测法对我国华北地区 Bt 棉种植区棉铃虫的抗性演化情况进行了研究，连续 4 年在河北安次、连续 3 年在山东夏津的监测数据表明，棉铃虫的抗性基因频率一直保持在较低水平(< 0.003)，并未有抗性迅猛上升的迹象(Li *et al*.，2004)。2001 – 2004 采用抑制中浓度(IC_{50})和抑制终浓度(IC_{99})对来自我国 Bt 棉区的 53 个棉铃虫品系进行生物测定，也得到类似结论(Wu *et al*.，2006)。在澳大利亚，Akhurst 等(2003)采用室内敏感种群与田间被检测种群交配的方法监测了棉铃虫抗性的演化情况。在含 Cry1Ac 毒蛋白的人工饲料上连续筛选 16 代后，抗性个体能在表达 Cry1Ac 蛋白的 Bt 棉上完成个体发育并产下受精卵，说明澳大利亚棉铃虫种群对 Bt 棉花仍具有潜在的抗性。自 1998 年起，采用 F_2 代检测超低频率抗性基因的方法对来自美国和法国的 15 个种群、2 000 多个欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 的单雌系进行检测，仅检测到 3 个具有微效抗性基因的个体，并没有发现具有主效抗性基因的个体。这说明欧洲玉米螟对 Bt 玉米的主效抗性基因频率仍处在较低水平(Andow *et al*.，1998；Bourguet *et al*.，2003)。

上述抗性监测结果均表明，Bt 棉花和玉米在美国、澳大利亚、中国等国家大规模应用 6 ~ 10 年后，靶标害虫种群中的抗性个体或抗性等位基因频率均无明显的增长。研究表明，这与各个国家系统研究并严格执行了预防性的抗性治理对策以及个别国家独特的作物种植方式有关(Tabashinik *et al*.，2005)。尽管目前在田间尚未发现对 Bt 作物已经产生抗性的害虫种群，但应用更多的年份之后，害虫的抗性发展并非“是否”而是“何时”的问题(Bates *et al*.，2005)。

2.2 靶标害虫抗性的治理

国际上关于害虫对 Bt 作物的抗性治理，其第 1 代的技术对策主要是采用“高剂量/庇护所”(high dose/refuge)策略(US EPA，1998)。非 Bt 作物‘庇护所’中繁殖的害虫敏感个体(SS 基因型)与 Bt 抗虫作物上可能汰选出的抗性个体(RR 基因型)杂交可产生抗性杂合子(RS)，由于‘高剂量’能杀死 RS 个体，因此‘高剂量”与‘庇护所’的有机结合可以稀释害虫种群的抗性基因频率、延缓抗性发展、延长 Bt 作物的使用寿命。在美国、加拿大和澳大利亚，“庇护所”措施均由政府的有关管理机构强制采用，在种子销售时需要由公司与农民签订含此条款的种植合同(赵建周和芮昌辉，2001)。如果 Bt 毒蛋白的表达不能达到‘高剂量”，则要求种植‘庇护所’的比例大大提高。例如，Bt 棉对烟芽夜蛾和棉红铃虫、Bt 玉米对欧洲玉米螟等靶标害虫均达到抗性治理所要求的“高剂量”，但因不同害虫对 Bt 毒蛋白敏感性的差异，转单基因 Bt 棉品种对美洲棉铃虫和棉铃虫则不能达到‘高剂量”(Gould，1998)。考虑到这一因素，澳大利亚在 1996 – 2002 年一直将单基因 Bt 棉的应用严格限制在总植棉面积的 30%。

在我国的华北地区，由中国自主培育以及从美

国进口的 Bt 棉自 1998 年开始商品化应用，到 2000 年已超过当地总种植面积的 90%，对该地区棉花生产的恢复和发展起到了关键作用。然而，害虫对转基因抗虫作物的抗性适应将直接影响 Bt 作物应用的持久性，未来 Bt 作物在田间的有效使用寿命，将主要取决于抗性治理（IRM）的成效。

此外由于该策略所要求的'庇护所'面积较大（可达 20%～50%），不便于广泛应用，尤其是在以小农户种植为主的发展中国家（如中国、印度）很难推广，因此迫切需要研究开发新的抗性治理对策。目前国内研究已表明，我国的这种以个体农户经营为主的，多种棉铃虫寄主作物的小规模交叉混合种植模式，可为棉铃虫提供天然庇护所，有效地延缓了棉铃虫抗性的发展（Wu *et al*.，2002a），该策略可为其他发展中国家的棉铃虫抗性治理提供借鉴。

近年来开始采用的第 2 代的抗性治理技术，尤其是双（多）基因对策，主要是应用转双 Bt 基因作物来防治鳞翅目害虫（Bates *et al*.，2005），如转 *cry1Ac* 和 *cry2Ab* 基因的 Bollgard Ⅱ Bt 棉花、转 *cry1Ab* 和 *cry1F* 基因的 Bt 玉米。利用计算机模型和模式昆虫温室实验的方法均证明，与转单基因抗虫作物的轮用或混用相比，转双 Bt 基因作物能显著延缓害虫种群的抗性发展（Zhao *et al*.，2003；Gould，2003）。自 2003 年开始，表达两种 Bt 杀虫蛋白的第 2 代 Bt 作物如 Bollgard Ⅱ 抗虫棉已在澳大利亚进入商业化应用（CSIRO，2003）。2002－2003 年是转单、双 Bt 基因棉花的共存期，从 2004 年植棉季节开始将原有的单基因 Bt 棉全部改为双 Bt 基因品种，对 Bt 棉种植面积的限制也由原来的 30% 提高为 80%（Bates *et al*.，2005）。在美国，转双 Bt 基因棉花虽然已经完成登记程序（US EPA，2002），而且对美洲棉铃虫等害虫的效果显著提高，但由于正将新型的抗除草剂基因转入抗虫棉品种，目前尚未大面积种植，待品种配套后将会尽快推广应用，可望在抗性治理中发挥重要作用。

关于害虫对 Bt 作物的抗性监测与治理，以美国 Arizona 州对 Bt 棉及其主要靶标害虫棉红铃虫的研究最为系统和深入。1997－2004 年连续 8 年采用诊断剂量检测抗性个体频率的方法，每年在全州范围内 10～17 块棉田采样，发现棉红铃虫种群的抗性个体和基因频率没有增加；通过室内实验、田间验证并结合计算机模型分析表明，该州对 Bt 棉抗性治理成功的主要原因包括：（1）非 Bt 棉花'庇护所'的应用，占全州的总植棉面积一直保持在 14% 以上；（2）棉红铃虫对 Bt 毒蛋白的抗性属于隐性遗传；（3）害虫纯合抗性个体的表现型为不完全抗性，在 Bt 棉花上的存活率和繁殖力均较低；（4）抗性个体的适合度下降，与敏感种群相比，抗性种群的幼虫在非 Bt 棉花上取食以及越冬期的存活率显著降低（Tabashnik *et al*.，2005）。

在国内采用单雌系 F_1/F_2 代诊断剂量检测法对我国华北 Bt 棉种植区棉铃虫的抗性监测结果表明，棉铃虫的抗性基因频率一直保持在较低水平（< 0.003），并未有抗性迅猛上升的迹象（Li *et al*.，2004）。2001－2004 年采用抑制中浓度（IC_{50}）和抑制终浓度（IC_{99}）对来自我国 Bt 棉区的 53 个棉铃虫品系进行生物测定，也得到类似结论（Wu *et al*.，2006）。分析其原因主要与我国 Bt 棉区独特的作物种植方式有关（Wu *et al*.，2002a），即个体农户的棉花、玉米、大豆、花生等多种棉铃虫寄主作物的小规模交叉混合种植为棉铃虫提供了天然庇护所。春播玉米、花生和大豆可在整个生育期分别为第 2、3、4 代棉铃虫提供庇护作用；早播和晚播夏玉米的穗期可分别为第 3、4 代棉铃虫提供庇护所。

3　结语

通过国内外大量的室内和田间研究，越来越多的结果证明，Bt 作物对非靶标生物的数量和功能的不利影响极小，尤其是比施用常规杀虫剂要安全得多。但值得注意的是，这些研究大部分是建立在室内观察或短期的田间试验小区调查基础上，长期系统的观测结果较少。评价指标和对象也很单一，很少从种群、群落、食物网等生态系统的角度综合评价。随 Bt 棉花和玉米在美国及全球种植面积的进一步扩大，其对非靶标生物的长期生态效应将是 Bt 作物大面积推广过程中亟待明确的一项重要研究课题。

由于抗性治理策略的有效实施，目前在田间尚未发现对 Bt 作物已经产生抗性的害虫种群，但随 Bt 棉花和玉米种植范围和面积的不断扩大，害虫的抗性发展并非'是否'而是'何时'的问题。今后，我们应研制更灵敏、高效、反馈及时的抗性监测预警体系和抗性治理对策，以便更好的延缓害虫抗性进化的速度，延长 Bt 作物的使用寿命，使其在害虫综合治理中发挥更重要的作用。

参考文献（References）

Adamczyk JJ Jr，Gore J，2004. Laboratory and field performance of cotton

containing cry1Ac, *cry1F*, and both *cry1Ac* and *cry1F* against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol*., 87(4): 427 - 432.

Akhurst RJ, James W, Bird LJ, Beard C, 2003. Resistance to the Cry1Ac δ-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J*. *Econ*. *Entomol*., 96: 1 290 - 1 299.

Al-Deeb MA, Wilde GE, Blair JM, Todd TC, 2003. Effect of Bt corn for corn rootworm control on nontarget soil microarthropods and nematodes. *Environ*. *Entomol*., 32: 859 - 865.

Andow DA, Alstad DN, Pang YH, Bolin PC, Hutchison WD, 1998. Using an F_2 screen to search for resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxin in European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J*. *Econ*. *Entomol*., 91: 579 - 584.

Bates SL, Zhao JZ, Roush RT, Shelton AM, 2005. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. *Nat*. *Biotechnol*., 23(1): 57 - 62.

Bhatti MA, Duan J, Head G, Jiang C, Mckee MJ, Nickson TE, Pilcher CL, Pilcher CD, 2005a. Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) protected Bt corn on ground-dwelling invertebrates. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 325 - 1 335.

Bhatti MA, Duan J, Head G, Jiang C, Mckee MJ, Nickson TE, Pilcher CL, Pilcher CD, 2005b. Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) protected Bt corn on foliage-dwelling arthropods. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 336 - 1 345.

Bitzer RJ, Rice ME, Pilcher CD, Pilcher CL, Lam WF, 2005. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm *Bt* corn. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 346 - 1 376

Bourguet D, Chaufaux J, Seguin M, Buisson C, Hinton JL, Stodola TJ, Porter P, Cronholm G, Buschman LL, Andow DA, 2003. Frequency of alleles conferring resistance to Bt maize in French and US corn belt populations of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Theor*. *Appl*. *Genet*., 106(7): 1 225 - 1 233.

Burd AD, Gould F, Bradley JR, Vanduyn JW, Moar WJ, 2003. Estimated frequency of non-recessive Bt resistance genes in bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) in eastern North Carolina. *J*. *Econ*. *Entomol*., 96: 137 - 142.

CSIRO (CSIRO Information Sheet), 2003. http://www.csiro.au/proprietaryDocuments/PIinfobollgard.pdf.

Cui JJ, Xia JY, 1998. Effects of Bt transgenic cotton (with early maturity) on population dynamic of main pests and their natural enemies. *Acta Gossypii Sin*., 10(5): 255 - 262. [**崔金杰，夏敬源**，1998. **麦套夏播转** Bt **基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律**. **棉花学报**，10(5): 255 - 262]

Cui JJ, Xia JY, 1999. Effects of transgenic Bt cotton on the population dynamic of natural enemies. *Acta Gossypii Sin*., 11(2): 84 - 91. [**崔金杰，夏敬源**，1999. **转** Bt **基因棉对天敌种群动态的影响**. **棉花学报**，11(2): 84 - 91]

Daly T, Buntin GD, 2005. Effect of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn for lepidopteran control on nontarget arthropods. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 292 - 1 301.

Dively GP, 2005. Impact of transgenic *VIP3A* × *cry1Ab* lepidopteran-resistant field corn on the nontarget arthropod community. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 267 - 1 291.

Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F, 2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol*. *Entomol*., 27: 441 - 447.

Dutton A, Romeis J, Bigler F, 2003. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study. *BioControl*, 48: 611 - 636.

Ferre J, van Rie J, 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu*. *Rev*. *Entomol*., 47: 501 - 533.

Gould F, 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annu*. *Rev*. *Entomol*., 43: 701 - 726.

Gould F, 2003. Bt-resistance management - theory meets data. *Nat*. *Biotechnol*., 21(12): 1 450 - 1 451.

Gould F, Andenson A, Jones A, Sumerford D, Heckel DG, Lopez L, Micinski S, Leonard R, Laster M, 1997. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 94: 3 519 - 3 523.

Greenplate JT, Mullins, J W, Penn SR, Dahm A, Reich BJ, Osborn JA, Rahn PR, Ruschke L, Shappley ZW, 2003. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative toxin contribution, toxin interaction, and resistance management. *J*. *Appl*. *Entomol*., 127: 340 - 347.

Harwood JD, Wallin WG, Obrycki JJ, 2005. Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Mol*. *Ecol*., 14: 2 815 - 2 823.

Head G, Christopher RB, Mark EG, Jian JD, 2001. Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomol*. *Exp*. *Appl*., 99: 37 - 45.

Head G, Moar W, Eubanks M, Freeman B, Ruberson J, Hagerty A, Turnipseed S, 2005. A multiyear, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. *Environ*. *Entomol*., 34(5): 1 257 - 1 266.

Hellmich RL, Siegfried BD, Sears MK, Stanley-Horn DE, Daniels M, Mattila HR, Spencer T, Bidne KG, Lewis L, 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 98: 11 925 - 11 930.

Hilbeck A, Baumgartner M, Fried PM, Bigler F, 1998a. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ*. *Entomol*., 27(2): 480 - 487.

Hilbeck A, Moar WJ, Pusztai-Carey M, Filippini A, Bigler F, 1998b. Toxicity of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) using diet incorporated bioassays. *Environ*. *Entomol*., 27(5): 1 255 - 1 263.

Hilbeck A, Moar WJ, Pusztai-Carey M, Filippini A, Bigler F, 1999. Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomol*. *Exp*. *Appl*., 91: 305 - 316.

Hodgson J，1999. Monarch Bt corn paper questioned. *Nat. Biotechnol.*，17：627.

Huang FN，2005. Effects of transgenic Bt-plants on non-target organisms. In：Tiu TX，Kang L eds. Entomological Research Progress and Prospect. Beijing：Science Press. 317－333.［**黄方能，**2005. **转基因** Bt **植物对非靶标物种的影响. 见：刘同先，康乐 主编，**2005. **昆虫学研究进展与展望. 北京：科学出版社.** 316－333］

Huang FN，2006. Detection and monitoring of insect resistance to transgenic Bt crops. *Insect Sci.*，13(2)：73－84.

James C，2005. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops：2005. ISAAA Briefs No. 34. Ithaca，NY：ISAAA. 46 pp.

Li GP，Wu KM，Gould F，Feng HQ，He YZ，Guo YY，2004. Frequency of Bt resistance genes in *Helicoverpa armigera* populations from the Yellow River cotton-farming region of China. *Entomol. Exp. Appl.*，112：135－143.

Li GP，Wu KM，He YZ，Guo YY，2003. Techniques for monitoring insect resistance to Bt crops. *Entomol. Knowl.*，40(4)：299－302.［**李国平，吴孔明，何运转，郭予元，**2003. **昆虫对** Bt **作物抗性监测技术. 昆虫知识，**40(4)：299－302］.

Li WD，Wu KM，Wang XQ，Guo YY，2003. Evaluation of impact of pollen grains of *cry1Ac* and *cry1A* + *CpTI* transgenic cotton on the growth and development of Chinese tussah silkworm，*Antheraea pernyi*. *J. Agri. Biotech.*，11(5)：489－493.［**李文东，吴孔明，王小奇，郭予元，**2003. **转** *cry1Ac* **和** *cry1A* + *CpTI* **基因棉花粉对柞蚕生长发育影响的评价. 农业生物技术学报，**11(5)：489－493］

Li WD，Ye GY，Wu KM，Wang XQ，Guo YY，2002. Evaluation of impact of pollen grains of *Bt*，*Bt/CpTI* transgenic cotton and *Bt* corn on the growth and development of the mulberry silkworm，*Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera：Bombyxidae). *Sci. Agri. Sin.*，35(11)：1 543－1 549.［**李文东，叶恭银，吴孔明，王小奇，郭予元，**2002. **转抗虫基因棉花和玉米花粉对家蚕生长发育影响的评价. 中国农业科学，**35(11)：1 543－1 549］

Lopez MD，Prasifka JR，Bruck DJ，Lewis LC，2005. Utility of ground beetle species in field tests of potential non-target effects of Bt crops. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 317－1 324.

Losey JE，Rayor LS，Carter ME，1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*，399：214.

Lövei GL，Arpaia S，2005. The impact of transgenic plants on natural enemies：a critical review of laboratory studies. *Entomol. Exp. Appl.*，114：1－14.

Lumbierres B，Albajes R，Pons X，2004. Transgenic Bt maize and *Rhopalosiphum padi* (Hom.，Aphididae) performance. *Ecol. Entomol.*，29：309－317.

Men XY，Ge F，Clive AE，Erdal NY，2004. Influence of pesticide applications on pest and predatory arthropods associated with transgenic Bt cotton and non-transgenic cotton plants. *Phytoparasitica*，32(3)：246－254.

Men XY，Ge F，Liu XH，Yardim EN，2003. Diversity of arthropod communities in transgenic Bt cotton and nontransgenic cotton agroecosystems. *Environ. Entomol.*，32(2)：270－275.

Naranjo SE，2005a. Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the abundance of nontarget arthropod natural enemies. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 193－1 210.

Naranjo SE，2005b. Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the function of the natural enemy community. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 211－1 223.

Naranjo SE，Head G，Dively GP，2005. Special section introduction：field studies assessing arthropod non-target effects in Bt transgenic crops. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 178－1 180.

Oberhauser KS，Prysby MD，Mattila HR，Stanley-Horn DE，Sears MK，Dively G，Olson E，Pleasants JM，Lam WF，Hellmich RL，2001. Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，98：11 913－11 918.

O'Callaghan M，Glare TR，Burgess EPJ，Malone LA，2005. Effects of plant genetically modified for insect resistance on nontarget organism. *Annu. Rev. Entomol.*，50：271－292.

Pilcher CD，Rice ME，Obrycki JJ，2005. Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 302－1 316.

Pleasants JM，Hellmich RL，Dively GP，Sears MK，Stanley-Horn DE，Mattila HR，Foster JE，Clark TL，Jones GD，2001. Corn pollen deposition on milkweeds in and near corn-fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，98：11 919－11 924.

Ponsard S，Gutierrez AP，Mills NJ，2002. Effect of Bt-toxin in transgenic cotton on the adult longevity of four heteropteran predators. *Environ. Entomol.*，31(6)：1 197－1 205.

Prasifka JR，Hellmich RL，Dively GP，Lewis LC，2005. Assessing the effects of pest management on nontarget arthropods：the influence of plots size and isolation. *Environ. Entomol.*，34(5)：1 181－1 192.

Raps A，Kehr J，Gugerli P，Moar WJ，Bigler F，Hilbeck A，2001. Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera：Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol. Ecol.*，10：525－533.

Romeis J，Meissle M，Bigler F，2006. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxin and biological control. *Nat. Biotechnol.*，24(1)：63－71.

Saxena D，Stotzky G，2000. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn *in vitro* and in situ. *FEMS Microbiol. Ecol.*，33：35－39.

Sears MK，Hellmich RL，Stanley-Horn DE，Oberhauser KS，Pleasants JM，Mattila HR，Siegfried BD，Dively GP，2001. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations：a risk assessment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，98：11 937－11 942.

Shelton AM，Zhao JZ，Roush RT，2002. Economic，ecological，food safety，and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.*，47：845－881.

Sims SR，1995. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Cry1Ac) protein expressed in transgenic cotton：effects on beneficial and other nontarget insects. *Southwest. Entomol.*，20：493－500.

Stanley-Horn DE，Dively GP，Hellmich RL，Mattila HR，Sears MK，Rose R，Jesse LCH，Losey JE，Obrycki JJ，Lewis L，2001. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，98：11 931－11 936.

Stewart SD，Adamezyk JJ Jr，Knighten KS，Davis FM，2001. Impact of Bt

cotton expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *J. Econ. Entomol.*, 94(3): 752 – 760.

Stotzky G, 2000. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *J. Environ. Qual.*, 29: 691 – 705.

Sumerford DV, Hardee DD, Adams LC, Solomon WL, 1999. Status of Monitoring for Tolerance to Cry1Ac in Populations of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens*: Three-year Summary. Proceeding of the Beltwide Cotton Conferences. National Cotton Council, USA. 936 – 939.

Tabashnik BE, Dennehy TJ, Carriere Y, 2005. Delayed resistance to transgenic cotton in pink bollworm. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 102 (43): 15 389 – 393.

Tabashnik BE, Patin AL, Dennehy TJ, Liu YB, Carrière Y, Sims MA, Antilla L, 2000. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in field populations of pink bollworm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 12 980 – 12 984.

Torres JB, Ruberson JR, 2005. Canopy- and ground-dwelling predatory arthropods in commercial Bt and non-Bt cotton fields: patterns and mechanisms. *Environ. Entomol.*, 34(5): 1 242 – 1 256.

Tschenn J, Losey JE, Jesse LH, Obrycki JJ, Hufbauer R, 2001. Effects of corn plantsand corn pollen on monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae) oviposition behavior. *Environ. Entomol.*, 30: 495 – 500.

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1998. http://www.epa.gov/scipoly/sap/1998/february/ finalfeb.pdf.

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2000. Bt Plant-pesticides Biopesticides Registration Action Document. http://www.epa.gov/scipoly/sap/2000/october/brad2-scienceassessment.pdf.

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2002. http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet006487.htm.

US EPA, 2001. *Bacillus thuringiensis* Subspecies Cry1F Protein and the Genetic Material Necessary for Its Production (Plasmid Insect PHI 8999) in Corn. Pesticide Fact Sheet. US-EPA, Washington, D. C. 28 pp.

USDA (U. S. Department of Agriculture-NASS), 2005. http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/field/ pcp-bba/acrg0605.pdf.

Velders RM, Cui JJ, Xia JY, 2002. Effects of transgenic cotton in North of China on cotton aphid and its natural enemies. *Acta Gossypii Sin.*, 14: 175 – 179.

Whitehouse MEA, Wilson LJ, Fitt GP, 2005. A comparison of arthropod communities in transgenic Bt and conventional cotton in Australia. *Environ. Entomol.*, 34(5): 1 224 – 1 241.

Wilson FD, Flint HM, Deaton WR, Fischhoff DA, Perlak FJ, Armstrong TA, Fuchs RL, Berberich SA, Parks NJ, Stapp BR, 1992. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm and other insects. *J. Econ. Entomol.*, 85(4): 1 516 – 1 521.

Wu KM, Guo YY, 2003. Influences of *Bacillus thuringiensis* Berliner cotton planting on population dynamics of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, in northern China. *Environ. Entomol.*, 32(2): 312 – 318.

Wu KM, Guo YY, Gao SS, 2002a. Evaluation of the natural refuge function for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) within *Bacillus thuringiensis* transgenic cotton growing areas in north China. *J. Econ. Entomol.*, 95(4): 832 – 837.

Wu KM, Guo YY, Head G, 2006. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt insecticidal protein during 2001 – 2004 in China. *J. Econ. Entomol.*, 99(3): 893 – 898.

Wu KM, Li WD, Feng HQ, Guo YY, 2002b. Seasonal abundance of the mirids, *Lygus lucorum* and *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae), on Bt cotton in northern China. *Crop Prot.*, 21: 997 – 1 002.

Yu L, Berry RE, Croft BA, 1997. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Orbatidae). *J. Econ. Entomol.*, 90(1): 113 – 118.

Zangerl AR, Mckenna D, Wraight CL, Carroll M, Ficarello P, Warner R, Berenbaum MR, 2001. Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 11 908 – 11 912.

Zhang GF, Wan FH, Lövei GL, Liu WX, Guo JY, 2006. Transmission of Bt toxin to the predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) through its aphid prey feeding on transgenic Bt cotton. *Environ. Entomol.*, 35(1): 143 – 150.

Zhao JZ, Cao J, Li YX, Collins HL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM, 2003. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. *Nat. Biotechnol.*, 21(12): 1 493 – 1 497.

Zhao JZ, Rui CH, 2001. Resistance management of transgenic insect-resistant cotton. In: Jia SR *et al*. eds. Transgenic Cotton. Beijing: Science Press. 165 – 180. [**赵建周, 芮昌辉**, 2001. **转基因抗虫棉的抗性治理**. **见: 贾士荣等主编**. **转基因棉花**. **北京: 科学出版社**. 165 – 180]

(责任编辑: 袁德成)